Sobre a Amœba diplomitotica n. sp.

Contribuição para o estudo da divizão nuclear nas amebas

pelo

Dr. H. de Beaurepaire Aragão,

Assistente do Instituto

(Estampa 2)

Ueber eine neue Amoebenart, Amoeba diplomitotica.

Beitrag zum Studium der Kernteilung bei den Amoeben

von

Dr. H. de Beaurepaire Aragão,

Assistenten am Institut

(Tafel 2)

Entre as diferentes amebas de agua doce que, nestes ultimos tempos, tivemos ocazião de observar no Instituto, uma se nos deparou, com um processo de divizão bastante curiozo que procurámos observar por menor, sem esquecer tambem outras questões referentes á sua morfologia e biolojia. Aprezentamos, a seguir, o rezultado de nossas pesquizas sobre o assunto.

A *Amœba diplomitotica* prolifera muito bem, em geral, tanto nas cubas de cultura assim como nos meios artificiais liquidos ou solidos; nestes, porem, sua vejetação, embora abundante não dá logar ao aparecimento de formas tão dezenvolvidas e de estrutura tão nitida como nos meios liquidos, além de que o enquistamento, muito mais precoce, apressa tambem as fazes de vejetação da ameba, impedindo a boa observação dellas.

Nas infuzões vejetais, principalmente naquellas em que a prezença de paramecios diminue a quantidade de bacterios, em certa proporção, é que a ameba encontra as melhores condições de proliferação.

Desde que em uma cultura as amebas proliferam em abundancia, convem observal-as seguidamente, quer a fresco, quer em pre-

Unter den verschiedenen Süsswasseramoeben, welche wir in letzter Zeit in diesem Institute zu beobachten Gelegenheit hatten, kam uns eine vor, deren Teilungsprozess ziemlich merkwürdig ist, weshalb wir ihn eingehend zu beobachten versuchten, wobei wir auch die anderen Fragen der Morphologie und Biologie nicht ausser Acht liessen. Wir geben nachstehend die Resultate unserer einschlägigen Untersuchungen:

Die *Amoeba diplomitotica* vermehrt sich im Allgemeinen sehr gut, sowohl in den Kulturgläsern, als in den verschiedentlichen künstlichen, flüssigen und festen Nährmedien. Auf letzteren giebt sie jedoch, trotz reichlichen Wachsthums, keine so deutlichen Entwicklungs- und Strukturformen, als in flüssigen Kulturmedien, abgesehen davon, dass die viel frühzeitigere Incystierung auch die Vegetationsformen der Amoeben beschleunigt und so eine gute Beobachtung derselben hindert.

Nur in vegetabilischen Infusionen, besonders solchen, bei welchen die Gegenwart von Paramaecien die Bacterienmengen einigermassen beschränkt, findet die Amoebe die günstigsten Existenzbedingungen. Sobald sich in einer Kultur die Amoeben reichlich vermeh-

parados fixados e córados, para que se possa surpreender as fazes interessantes do seu ciclo e, principalmente aquellas que se referem á divizão nuclear. A tecnica mais recomendavel para a confecção de preparações fixadas e vantajozas ao estudo é a de se fazerem preparados totais sobre laminula e o emprego do processo humido de Schaudinn, seguido de coloração pelo metodo de Heidenhain com a hematoxilina ferrea.

Morfolojia e biolojia: A forma da ameba, quando em repouzo, é arredondada aprezentando ella então de 20 a 30 *mikra* de diametro. Desde, porem, que entra em movimento toma configuração mais variada pela constante emissão de pseudopodios em uma ou outra porção do seu corpo. Estes pseudopodios que são unicos, de egual largura e comprimento que o resto do corpo da ameba e, neste cazo, quazi sempre unicos, ou então são estreitos, longos, multiplos, assestando-se em qualquer ponto, não raro tomando dispozição radiada em torno ao endoplasma do protozoario. Quer uns quer outros são, ao se formarem, apenas constituidos por ectoplasma; o endoplasma nelles penetra só depois de perfeitamente constituidos.

Os pseudopodios formam-se sucessivamente, com pequeno intervalo, permitindo á ameba rapido deslocamento, quer numa só direção, quando se formam sucessivamente no mesmo ponto, quer alterando a quazi todo o instante a orientação do movimento pela emissão de prolongamentos sem a mesma regularidade de localização.

Estando a ameba em movimento, com a formação de pseudopodios e a penetração nelles do endoplasma se dá a constante deslocação dos elementos nelle contidos, nucleos, vacuolos, incluzões etc.

O protoplasma da ameba é fluido, nelle se distingue ectoplasma hialino e um endoplasma, pouco refrinjente, alveolarmente estruturado no qual se veem granulações diversas, bacterios, vacuolos dijestivos e pulsateis e o nucleo.

Os bacterios existem, ás vezes, em grande abundancia e tem o aspeto de pequenos corpusculos e massas refrinjentes.

ren, ist es geboten, dieselbe anhaltend, teils in frischen, theils in fixierten und gefärbten Präparaten zu verfolgen, um die interessanten Phasen ihres Entwicklungszyklus ertappen zu können, ganz besonders diejenigen, welche sich auf die Kernteilung beziehen. Die empfehlenswerteste Technik für die Herstellung günstiger Präparate besteht in der Anwendung von Deckglaspräparaten, welche nach der feuchten Methode, von SCHAUDINN fixirt und mit HEIDENHAIN'schem Eisenhaematoxylin gefärbt werden.

Morphologie und Biologie: In Ruhe hat die Amoebe eine rundliche Form und einen Durchmesser von 20—30 Mikra; sobald sie sich indessen in Bewegung setzt, nimmt sie die verschiedensten Formen an, indem sie beständig von irgend einem Teile ihres Körpers Pseudopodien aussendet. Diese sind entweder von gleicher Länge und Breite, als der Rest des Leibes, und dann fast immer in der Einzahl, oder schmal, lang und in Mehrzahl, indem sie an irgend einer Stelle auftreten und sich nicht selten strahlenförmig um das Endoplasma der Amoebe gruppiren. Die einen, wie die andern, bestehen bei ihrer Bildung nur aus Ectoplasma und das Endoplasma dringt in dieselben erst nach ihrer völligen Ausbildung. Die Pseudopodien bilden sich successiv mit kurzen Intervallen, wobei sich die Amoebe rasch fortbewegt, entweder in einer Richtung, wenn dieselben fortwährend am selben Punkte auftreten, oder unter fortwährender ändernder Orientirung, wenn die Aussendung der Fortsätze ohne solche regelmässige Lokalisation stattfindet. Bewegt sich die Amoebe unter Bildung von Pseudopodien und Eindringen des Endoplasmas in dieselben, so erfolgt eine konstante Dislokation der darin enthaltenen Elemente, Kern, Vacuolen, Einschlüsse etc.

Das Protoplasma der Amoebe ist flüssig und man unterscheidet darin ein hyalines Ectoplasma und ein wenig lichtbrechendes Endoplasma von alveolärer Structur, in dem sich verschiedene Granulationen, Bacterien, verdauende und pulsirende Vacuolen und der Kern erkennen lassen. Bacterien sind manchmal in grosser Anzahl vorhanden und erschei-

Os vacuolos dijestivos aparecem sob a forma de pequenas zonas claras no interior das quais se vê muito frequentemente substancia em via de ser dijerida.

Quanto aos vacuolos pulsateis são elles multiplos, raramente menos de 3 ou mais de 7; um delles aprezenta volume muito maior que qualquer dos outros. Desde que este grande vacuolo pulsa, dous dos menores fundidos e, que tem por isso adquirido maior volume vem substituir o que dezapareceu, ao passo que outros vacuolos menores vão surjindo. O vacuolo maior existente no endoplasma, geralmente nelle ocupa as mais variadas pozições e n'elle se desloca a cada momento, ao passo que os vacuolos menores se deparam agrupados, quazi sempre em um só ponto, que é a porção posterior do corpo da ameba, durante o movimento.

O nucleo da *Amœba diplomitotica* é veziculozo; a fresco, aparece como pequena massa circular de contornos nitidos, de 3 a 4 *mikra* de diametro, menos refrinjente que o endoplasma que o cerca.

Examinado com maior individuação e em preparações bem coradas verifica-se que é constituido por membrana nitida duplamente contornada, a cuja face interna se aplicam numerozas pequenas massas de cromatina, ligadas umas a outras por delgados filamentos acromaticos. A esta camada de cromatina se segue uma zona circular de substancia acromatica cujo interior é ocupado por grande cariozoma no interior do qual ainda se pode distinguir nas preparações a fresco, ou nas bem diferenciadas, um pequeno centriolo. A estrutura do cariozoma não é homojenea, nelle se podem distinguir duas substancias diversas, uma de natureza plastinica e outra com carateres de cromatina que se acha distribuida sobre a primeira, sob a forma de pequenas massas de colorido mais carregado. Est. 2, fig. 1.

Esboçada a morfolojia da ameba e principalmente a de seu nucleo passemos a tratar da divizão nuclear que se processa debaixo de aspeto bastante curiozo, e creio, pelo menos até certo ponto, inedito.

nen als kleine, lichtbrechende Körperchen. Die Verdauungsvacuolen erscheinen in der Form kleiner heller Stellen, in deren Innern man öfters Substanzen findet, welche eben der Verdauung unterliegen.

Die pulsierenden Vacuolen existieren in der Mehrzahl, selten weniger als drei, oder mehr als sieben; eine derselben bietet ein viel grösseres Volumen, als irgend eine der anderen. Sobald eine dieser Vacuolen pulsiert, treten zwei kleinere, die sich vereinigt und dadurch an Volum gewonnen haben, an ihre Stelle, während andere kleinere Vacuolen auftreten. Die grösste Vacuole, welche im Endoplasma existiert, kann in demselben die verschiedensten Stellen einnehmen und verschiebt sich fortwährend, indessen die kleineren Vacuolen in Gruppen auftreten und zwar gewöhnlich in einem Punkte, welcher bei den Bewegungen den hintersten Teil des Amoebenkörpers bildet.

Der Kern der *Amoeba diplomitotica* ist blasig; frisch erscheint er als kleine, runde, scharf umschriebene Masse von 3—4 Mikra Durchmesser und ist weniger lichtbrechend als das Endoplasma, welches ihn umgiebt. Bei eingehender Untersuchung und in gefärbten Präparaten konstatirt man, dass er aus einer deutlichen, doppelt kontourirten Membran besteht, an deren Innenseite zahlreiche kleine Chromatinmassen liegen, welche miteinander durch dünne achromatische Filamente verbunden sind. Auf diese Schicht von Chromatin folgt eine Zone von Kreisen achromatischer Substanz, deren Inneres von einem grossen Caryosom eingenommen wird, in welchem man noch in frischen oder gut differenzierten Präparaten ein kleines Centriol unterscheiden kann. Die Struktur des Caryosoms ist nicht homogen, vielmehr kann man in demselben zwei verschiedene Substanzen unterscheiden, eine von Plastinnatur und eine andere mit den Charakteren des Chromatins, welche in der Form kleiner, stärker gefärbter Massen auf der ersteren verteilt ist. Tafel 2 Fig. 1.

Nachdem wir so die Morphologie der Amoebe und besonders ihres Nucleus dargestellt haben, wollen wir uns mit der Kernteilung befassen, welche ein ziemlich eigentüm-

A maioria dos processos de divizão assinalados para as amebas até hoje conhecidas é a da amitoze; ja existe, porem, um pequeno grupo desses protozoarios em que se tem assinalado a existencia de divizão carioquinetica, se bem que ainda evoluindo de modo um tanto primitivo.

A primeira menção de processo de divizão indireta nas amebas deve-se a Schaudinn (1) que a observou na *Amœba binucleata*. Algum tempo depois Awerinzew (2) verificou egualmente o mesmo tal processo na *Amœba proteus*.

Ulteriormente Vahlkampf (3) descreveu, na *Amœba limax*, um processo de divizão mitozica, mais tipico que os precedentes, caraterisado pela formação de placas polares, pela divizão do cariozoma e pelo aparecimento sobre os filamentos acromaticos que uniam essas placas de 3 cromozomios que depois se dividiam e se dirijiam para as placas polares onde, juntamente com ellas, rejeneravam os novos nucleos.

Prowazek, (4) e Leyden Löwenthal (5) assinalam na *Amœba buccalis* a existencia de mitoze primitiva.

Wenyon, (6) na *Amœba muris*, tambem conseguiu observar algumas fazes em que se percebe a divizão mitozica dessa ameba.

Mais recentemente, Doflein (7) assinalou, na *Amœba vespertilio*, a existencia de divizão indireta. Todavia porém, na *Amœba buccalis*, e nesta ultima, a carioquineze se manifesta no cariozoma, ao passo que os elementos do trofo-nucleo se dividem amitozicamente.

A *Amœba diplomitotica* aprezenta um processo de divizão indireta que se manifesta de dous modos diversos.

Uma das variedades no processo de divizão da ameba é caraterizado pela existencia de mitoze dupla do cariozoma e dos elementos do trofo-nucleo; a outra assinala-se pela divizão direta do cariozoma e indireta do trofo-nucleo.

Vejamos cada um dos processos de per-si, a começar pelo de dupla mitoze.

liches und, wie ich glaube, wenigstens teilweise, noch unbeschriebenes Bild bietet.

Die Mehrzahl der von Amoeben berichteten Teilungsprozesse gehört zur Amitose; es existiert nur eine kleine Gruppe dieser Protozoen, bei welchen das Vorhandensein einer caryocinetischen Teilung angegeben ist, die sich übrigens in ziemlich primitiver Weise abspielt.

Die erste Erwähnung eines indirekten Teilungsprozesses bei den Amoeben verdanken wir SCHAUDINN, (1) der denselben bei der *Amoeba binucleata* beobachtete. Einige Zeit später stellte AWERINZEW (2) ebenfalls das Vorkommen eines solchen Prozesses bei der *Amoeba proteus* fest. Später beschrieb VAHLKAMPF (3) bei der *Amoeba limax* einen mitotischen Kernteilungsprozess, der typischer als die vorstehenden ist. Derselbe kennzeichnet sich durch die Bildung von Polplatten, die Teilung des Caryosoms und das Auftreten von drei Chromosomen auf den achromatischen Filamenten, welche die Polplatten verbinden; diese teilen sich darauf und begeben sich zu den Polplatten, um, zusammen mit diesen, die neuen Amoebenkerne zu bilden.

PROWAZEK (4) und LEYDEN-LÖWENTHAL (5) geben bei der *Amoeba buccalis* dle Existenz einer primitiven Mitose an. Auch WENYON (6) gelingt es bei der *Amoeba muris* einige Phasen zu beobachten, aus welchen man die mitotische Teilung dieser Amoebe erkennt.

Neuerdings teilte DOFLEIN (7) das Vorkommen der indirekten Teilung bei *Amoeba vespertilio* mit; jedoch sowohl bei dieser, als bei der *Amoeba buccalis* zeigt sich die Caryocinese am Caryosom, während sich die Elemente des Aussennucleus amitotisch teilen.

Die *Amoeba diplomitotica* zeigt einen indirekten Teilungsprozess, der sich auf zwei verschiedene Weisen äussert. Eine derselben kennzeichnet sich durch die Existenz einer doppelten Mitose des Caryosoms und der Elemente des Aussenkerns; die andere äussert sich durch eine direkte Teilung des Caryosoms und eine indirekte des Aussennucleus. Wir betrachten nun beide Prozesse und beginnen mit demjenigen der doppelten Mitose.

Dieser Teilungsprozess ähnelt demjenigen sehr, den wir bei der *Polytomella agilis* be-

Este processo de divizão muito se assemelha áquelle que assinalaremos para a *Polytomella agilis*. Sua primeira faze carateriza-se pela fragmentação do cariozoma da ameba e pela dispozição radiaria que, em torno delle, tomam os elementos do nucleo exterior. Est. 2, fig. 2.

Em seguida os cromozomios do cariozoma, orientados pelos dous centriolos orijinarios da divizão do primitivo do nucleo, na faze precedente, começam a se separar em dous grupamentos opostos, ao mesmo tempo que os cromozomios do nucleo exterior se deslocam para os lados do cariozoma, já então um pouco alongado e ahi se agrupam circumdando-o. Est. 2, fig. 3.

Em faze mais adiantada os cromozomios do cariozoma aparecem separados em dous grupamentos nitidos, ligados um ao outro por delicados filamentos acromaticos e pelo filamento de união dos centriolos, geralmente bastante vizivel. Os cromozomios do nucleo exterior precedentemente colocados em torno do cariozoma, vêm-se dispor, então, no espaço que fica entre os dous grupos de cromozomios do cariozoma, tomando aí uma dispozição quazi perpendicular ao maior eixo da figura de divizão.

Já então a membrana nuclear dezapareceu por completo e a figura de divizão aparece no interior de um espaço claro sem limites nitidos. Est. 2, fig. 4.

As fazes seguintes do processo são assinaladas pelo afastamento progressivo dos grupamentos de cromozomios do cariozoma que passam a constituir, nos extremos da zona de divizão, duas placas polares lijeiramente concavas, internamente, nas quais se pode observar, ás vezes, com muita nitidez um centriolo ligado ao do lado oposto por filamento intermediario sempre bastante distinto — Os filamentos acromaticos e os cromozomios do nucleo exterior não aprezentam alterações sensiveis, apenas aquelles se tornaram mais longos. Est. 2, fig 5 e 6.

Continuando o afastamento das placas polares, observam-se certas modificações na figura de divizão; toma o aspeto de fuzo

schreiben werden. Seine erste Phase charakterisiert sich durch die Fragmentirung des Caryosoms der Amoebe und durch die radiäre Anordnung der Elemente des Aussennucleus um dieselbe. (Tafel 2 Fig. 2). Hierauf beginnen die Chromosomen des Caryosoms, orientiert durch die zwei Centriolen, welche in der vorhergehenden Phase durch die Teilung des ursprünglich im Kerne vorhandenen entstehen, sich in zwei entgegengesetzte Gruppen zu teilen, während die Chromosomen des Aussennucleus sich nach dem, schon jetzt etwas verlängerten, Caryosoma begeben und sich um dasselbe gruppiren. (Tafel 2 Fig. 3). In einer mehr vorgeschrittenen Phase erscheinen die Chromosomen des Caryosoms in zwei deutliche Gruppen getrennt, welche unter sich durch zarte achromatische Filamente und den, gewöhnlich deutlich sichtbaren, Verbindungsfaden der Centriolen im Zusammenhang stehen. Die vorher um das Caryosom gelagerten Chromosomen des Aussennucleus rücken nun nach dem freien Raume, welcher zwischen den beiden Gruppen der Chromosomen des Caryosoms bleibt und ordnen sich dort fast senkrecht zur grössten Axe der Teilungsfigur.

Schon jetzt verschwinden die Kernmembranen fast völlig und die Teilungsfiguren erscheinen im Innern eines hellen Raumes, der keine deutliche Begrenzung zeigt. (Tafel 2 Fig. 4).

Die weiteren Phasen des Prozesses kennzeichnen sich durch fortschreitende Entfernung der Chromosomengruppen des Caryosoms, welche allmälich an den Enden der Trennungszone zwei, nach innen leicht konkave Polplatten bilden, in deren Innern man oft sehr deutlich ein Centriol erkennt, welches mit demjenigen der anderen Seite durch einen, immer sehr deutlichen, Verbindungsfaden zusammenhängt. Die achromatischen Filamente und die Chromosomen des Aussennucleus zeigen keine deutlichen Veränderungen, nur werden jene etwas länger. (Tafel 2 Fig. 5, 6). Während die Entfernung der Polplatten weiter geht, beobachtet man gewisse Modifikationen der Teilungsfigur; sie nimmt die Form einer länglichen Spindel an und auf den die

alongado e sobre os filamentos que unem as placas polares aparecem espalhadas, ocupando-os em quazi toda a extensão os cromozomios do nucleo exterior que precedentemente tomavam a dispozição anular em torno do maior eixo da zona nuclear. Est. 2, fig. 7.

Não tarda, porém, que o aspeto precedente se modifique, e continuando o afastamento das placas polares toma a figura de divizão certa conformação cilindrica, com o aspeto de um chouriço, mantendo-se porém a mesma a dispozição dos cromozomios do nucleo externo sobre os filamentos acromaticos. Est. 2, fig. 8.

Atinjido este periodo, pode se dizer que se está na metafaze do processo de divizão; daqui em diante tende tudo á constituição dos nucleos secundarios.

Observa-se então, como primeiro indicio do novo curso que vai tomar o processo, o estreitamento da figura precedente na parte media do seu comprimento, ao mesmo tempo que os cromozomios que aí se achavam se afastam para um lado e para outro e vão constituir dous agrupamentos conicos opostos pelos vertices e com bazes voltadas para as placas polares, de que são separados por pequena zona clara, separada por filamentos acromaticos atravessando, de um lado a outro, a zona estreitada. Vê-se o filamento de união dos centriolos. Est. 2, fig. 9.

Adiantando-se o processo, observa-se que os cromozomios do nucleo exterior, assim como as placas polares se tornam, aos poucos, compactos e não deixam perceber mais a separação nitida dos cromozomios aí existentes. Logo depois se nota que, progressivamente, os cromozomios do nucleo exterior que constituem o cone aos poucos, se vão desprendendo delle e começam a passar para o espaço claro que separa a placa polar da massa de elementos do nucleo exterior, e aí surjem dispostos em fila, formando uma especie de corôa em torno á essa placa. Est. 2, fig. 10.

Nesta ocazião, a zona nuclear se torna muito alongada no que tambem é acompa-

Polplatten verbindenden Fäden erscheinen, zerstreut und dieselben nach und nach fast in ihrer ganzen Ausdehnung bedeckend, die Chromosomen des Aussennucleus, welche vorher ringförmig um die grosse Axe des Kernfeldes gelagert waren. (Tafel 2 Fig. 7).

Dieses Bild ändert sich jedoch bald wieder und während sich die Polplatten weiter entfernen, nimmt die Teilungsfigur eine Cylinder- oder Wurstform an, wobei aber dieselbe Anordnung der Chromosomen des Aussenkerns auf den achromatischen Filamenten weiter besteht.

Diese Periode kann man als die Metaphase des Teilungsprozesses ansprechen; von jetzt ab geht die ganze Tendenz auf die Bildung der Tochterkerne.

Man bemerkt dann als erstes Anzeichen der neuen Richtung, welche der Prozess einschlägt, eine Einschnürung der vorstehenden Figur in der Mitte ihrer Längsrichtung, während die dort befindlichen Chromosomen nach beiden Seiten abrücken, um zwei konische Gruppen zu bilden, deren Spitzen einander zugewendet sind, während die Basen nach den Polplatten gerichtet sind, von denen sie durch eine helle, von achromatischen Fäden durchsetzte Zone getrennt werden. Den Centralfaden, welcher die beiden Centriolen verbindet, sieht man diese schmalen, hellen Zonen von einer Seite zur andern durchsetzen. (Tafel 2 Fig. 9). Bei weiterem Fortschreiten des Prozesses sieht man, wie die Chromosomen des Aussennucleus und die Polplatten sich immer dichter anordnen, so dass die deutliche Trennung der daselbst vorhandenen Chromosomen verwischt wird. Kurz darauf bemerkt man, dass die Chromosomen des Aussennucleus, welche den Konus bilden, sich allmälig fortschreitend von demselben ablösen und dem hellen Raume zurücken, welcher die Polplatten von der Masse der Elemente des Aussenkerns trennt, und sich dort in einer Reihe ordnen, welche eine Art von Kranz um diese Platte bildet. (Tafel 2 Fig. 10). Bei dieser Gelegenheit zieht sich die Kernzone sehr in die Länge und wird darin vom Protoplasma der Amoebe begleitet, welche sich im sel-

nhada pelo protoplasma da ameba que, então se tem alongado no mesmo sentido e, não raro já se começa a observar os primeiros sinais de divizão do protoplasma que se faz diretamente, pelo estreitamento progressivo delle, na parte media.

Coincide com os primeiros indicios da divizão do protoplasma o rompimento, na parte media, do filamento de união dos centriolos, que ainda ligava os produtos da divizão nuclear, izolando-se, então, de cada lado da ameba os elementos dos futuros nucleos.

A's vezes a segmentação do protoplasma é tão rapida que as amebas já se acham izoladas, achando-se ainda o nucleo em faze bastante atrazada de reconstituição nuclear, Est. 2, fig. 11.

A' medida que os cromozomios do nucleo exterior vão passando para a zona intermediaria acima mencionada, o cone primitivo de cromozomios vai aos poucos diminuindo de tamanho.

Por sua vez a placa polar aumenta de volume e vai se arredondando e tomando a forma do futuro cariozoma que della se rejenerará. O contorno da zona nuclear começa a se arredondar, vae se tornando mais nitido, e nelle não tarda a se esboçar uma membrana, cujos extremos tocam os restos do cone do nucleo exterior. Os cromozomios do nucleo exterior que, até ha pouco, formavam corôa em torno da placa polar, começam a cercar o futuro cariozoma, já então ligado á membrana por delicados filamentos acromaticos. Est. 2, fig. 12.

Daqui em diante, a reconstitução nuclear se processa rapidamente e em breve o cariozoma aprezenta sua forma esferica normal, ocupa o centro do nucleo, emquanto os cromozomios do nucleo exterior tomam a sua dispozição tipica junto á membrana nuclear.

Termina aqui o processo de divizão vejetativa da ameba. Durante as fazes delle se observa que o rizopode, á medida que progride o fenomeno aprezenta cada vez maior diminuição da motilidade, até se completar a divizão celular e a rejeneração do nu-

ben Sinne streckt; nicht selten beginnen dann bereits die ersten wahrnehmbaren Erscheinungen der Protoplasmateilung, welche direkt durch Einschnürung im mittelsten Teile erfolgt. Mit den ersten Anzeichen derselben koinzidiert die in der Mitte erfolgende Durchschnürung des Verbindungsfadens der Centriolen, welcher die Produkte der Kernteilung noch zusammen hielt, worauf sich auf beiden Seiten der Amoebe die Elemente der zukünftigen Kerne isolieren.

Manchmal ist die Teilung des Protoplasmas eine so rasche, dass man die Amoeben schon getrennt findet, während ihre Kerne sich noch in einer wenig vorgeschrittenen Phase der Rekonstitution befinden. (Tafel 2 Fig. 11).

In dem Maasse, wie die Chromosomen des Aussennucleus nach der oben erwähnten intermediären Zone rücken, nimmt der ursprüngliche Konus der Chromosomen nach und nach an Grösse ab. Dagegen nimmt die Polplatte an Volum zu, rundet sich ab und nimmt die Form des zukünftigen Caryosoms an. Der Umriss der Kernzone beginnt sich abzurunden und immer deutlicher zu werden und bald zeichnet sich eine Membran, deren Enden die Reste des Aussennuclearkonus ausziehen. Die Thromosomen des Aussennucleus, welche bis vor Kurzem einen Kranz um die Polplatten bildeten, beginnen das zukünftige Caryosom zu umgeben, welches noch durch zarte achromatische Fäden mit der Membran verbunden ist. (Tafel 2 Fig. 12).

Von nun an geht die Rekonstitution des Nucleus rasch vor sich und bald zeigt das Caryosom seine normale sphärische Form, wobei es das Zentrum des Nucleus einnimmt, während die Cromosomen des Aussennucleus ihre typische Lage an der Kernmembran eingenommen haben.

Hier endet der vegetative Teilungsprozess der Amoebe. In seinen verschiedenen Phasen beobachtet man, dass dieselbe, in dem Maasse, wie der Prozess fortschreitet, eine zunehmende Verminderung der Beweglichkeit zeigt, bis die Zellteilung und Regeneration des Kernes eingetreten ist, worauf die Amoebe ihre ursprünglichen Bewegungen wieder aufnimmt.

cleo; depois do que, recupera seus movimentos, como primitivamente.

Alem do processo de divizão vejetativa da ameba, pelo processo de dupla mitoze que acabamos de descrever e que é muito semelhante ao por nós observado na *Polytomella agilis* aprezenta a *Amœba diplomitotica* um segundo aspeto de divizão mais simplificada que a anterior, ao que já nos referimos precedentemente e do qual, agora, passamos a mencionar as principais fazes.

O inicio da divizão, neste cazo, assinala-se pelo alongamento do cariozoma e pelo agrupamento em torno do maior eixo delle, na parte mediana dos elementos do nucleo exterior. Est. 2, fig. 13. Em seguida se observa que, a medida que se alonga o cariozoma, começa a se estreitar na parte media, ao mesmo tempo que nesse ponto aparecem numerozos filamentos acromaticos em torno dos quais se dispoem os cromozomios do nucleo exterior sob a forma de placa equatorial muito nitida. Est. 2, fig. 14.

A seguir, observa-se que, cada vez mais, se estreita o cariozoma na parte central, ao passo que as duas massas que se vão formando nas extremidades da figura, se afastam um pouco uma da outra e afinal apenas ficam ligadas pelo filamento intermediario dos centriolos e pelo filamentos acromaticos cujo numero aos poucos foi aumentando. A placa de cromozomios do nucleo exterior não aprezenta até aqui modificação notavel. Nenhum vestijio resta na zona nuclear da membrana primitiva. Est. 2, fig. 15, 16, 17.

Quando a divizão dos cariozomas já tem atinjido o limite maximo e que elles se acham transformados em duas massas apenas ligadas pelo filamento intermediario dos centriolos, dá-se então o desdobramento da placa primitiva de cromozomios do nucleo exterior, em duas placas filhas, cujos elementos muito regularmente se enfileiram sobre os filamentos acromaticos. Est. 2, fig. 18.

Cada uma dessas placas filhas não tarda a se dirijir para um dos cariozomas secundarios, já então izolados e completamente redondos, e em torno delles se vão agrupando

Ausser dem Prozesse der vegetativen Teilung durch doppelte Mitose, den wir soeben beschrieben haben und welcher dem von uns bei *Polytomella agilis* beobachteten sehr ähnlich ist, zeigt die *Amoeba diplomitotica* noch eine zweite Teilungsweise, welche einfacher als die vorige ist; wir haben dieselbe bereits erwähnt und wollen jetzt die wichtigsten Phasen derselben kurz beschreiben.

In diesem Falle kennzeichnet sich der Beginn des Prozesses dadurch, dass das Caryosoma sich verlängert und die Elemente des Aussennucleus sich um die Mitte seiner längsten Axe gruppiren (Tafel 2, Fig. 13). Hierauf bemerkt man, dass das Caryosom, in dem Maasse wie es sich streckt, sich auch in der Mitte einzuschnüren beginnt, während an dieser Stelle zahlreiche achromatische Fäden auftreten, um welche sich die Chromosomen des Aussennucleus unter der Form einer sehr deutlichen Aequatorialplatte anordnen (Tafel 2, Fig. 14). Hierauf sieht man, wie das Caryosom in seinem mittleren Teile sich immer mehr einschnürt, während die beiden Massen, die sich an den Enden der Figur bilden, sich etwas von einander entfernen, bis sie schliesslich nur durch die Verbindungsfäden der Centriolen und, die allmälig an Zahl zunehmenden, achromatischen Fäden verbunden sind. Die Chromosomenplatte des Aussennucleus zeigt bis dahin keine bemerkenswerte Veränderung. In der Kernzone bleibt keine Spur der ursprünglichen Membran erhalten. (Tafel 2, Fig. 15, 16 u. 17). Wenn die Teilung der Caryosome bereits ihre äusserste Grenze erreicht hat und dieselben sich in zwei Massen verwandelt haben, welche nur durch die Verbindungsfäden der Centriolen zusammenhängen, dann erfolgt die Teilung der ursprünglichen aussennucleären Chromosomenplatte in zwei Tochterplatten, deren Elemente sich sehr regelmässig auf den achromatischen Fäden aufreihen. (Tafel 2, Fig. 18). Jede dieser Tochterplatten beginnt sofort, sich nach einem der sekundären Caryosome zu begeben (welche dann schon vollständig isoliert und abgerundet sind), worauf sie sich um dasselbe lagert und es zu umfassen sucht. An den Grenzen der Kernzone, deren Länge dann das Doppelte

e procurando cercal-os. Est. 2, fig. 19. Nos limites da zona nuclear, cujo comprimento não excede então o dobro da largura, começa se a notar a reconstituição da membrana, assim como os primeiros indicios da separação dos futuros nucleos. Como concluzão do processo obtem-se no interior da ameba, dous nucleos completamente constituidos, collocados um ao lado do outro. Est. 2, fig. 20.

O processo de divizão nuclear da ameba, mais simplificado neste cazo, nem sempre se faz com a regularidade e egualdade acima descritas; não muito raro é observar-se a divizão muito desegual dos cariozomas donde o constituir-se no interior da ameba dous nucleos de tamanho diverso. Est. 2, fig. 21, 22.

O processo de divizão nuclear acima descrito não se acompanha obrigatoriamente da divizão do protoplasma da ameba, muitas vezes até ha tempo della se processar 2 vezes, sem que o protoplasma se segmente, donde o aparecimento de amebas com 4 nucleos formados pelo processo acima.

A regra porém é que uma vez formados os dous nucleos, o protoplasma da ameba se segmente, ficando cada porção delle com um dos nucleos. Não se nota alteração na mobilidade da ameba, no decorrer das fazes de divizão.

Os dous processos de divizão da *Amœba diplomitotica* que acabamos de descrever parecem bem diversos um do outro e, tanto quanto podemos assegurar, destinados cada um delles a um processo de multiplicação do rizopode.

O processo de divizão por dupla mitoze, corresponde á divizão vejetativa da ameba; é o que assegura a regular e egual distribuição dos cromozomios do nucleo exterior e do cariozoma dos nucleos secundarios. Por ser processo de divizão mais complexo é, por isso mesmo, mais lento.

O segundo modo da divizão da ameba, ao contrario, se carateriza pela menor regularidade na distribuição dos cromozomios pelos nucleos secundarios; é, tambem, por ser menos complexo, mais rapido e o mais apro-

der Breite nicht überschreitet, fängt man an, die Rekonstitution der Membran und die ersten Anzeichen der Trennung der zukünftigen Kerne zu erkennen. Als Schluss des Prozesses erhält man im Innern der Amoebe zwei vollständig ausgebildete Kerne, welche neben einander gelagert sind (Tafel 2, Fig. 20). Der in diesem Falle vereinfachte Kernteilungsprozess der Amoebe vollzieht sich nicht immer mit der angegebenen Schnelligkeit und Gleichmässigkeit; nicht selten beobachtet man eine sehr ungleichmässige Teilung, so dass sich im Innern der Amoebe zwei Kerne von ungleicher Grösse bilden. (Tafel 2, Fig. 21, 22).

Der oben beschriebene Kernteilungsprozess wird nicht notwendig von der Teilung des Protoplasmas der Amoebe begleitet, ja derselbe findet oft Zeit, sich zu wiederholen, ohne dass das Protoplasma sich teilt, was zu dem Vorkommen von Amoeben mit vier auf obige Weise entstandenen Kernen führt. Die Regel ist jedoch, dass nach Bildung der beiden Kerne das Protoplasma der Amoebe sich teilt und jeder Teil desselben einen Kern behält. Man bemerkt dabei keine Veränderung der Beweglichkeit der Amoebe im Verlauf der Teilungsphasen.

Die beiden Teilungsprozesse der *Amöeba diplomitotica,* welche wir soeben beschrieben haben, verlaufen sehr verschieden von einander, obwohl sie, soviel wir versichern können, beide dem Zwecke der Vermehrung des Rhizopoden dienen.

Der Prozess der Teilung durch doppelte Mitose entspricht der vegetativen Teilung der Amoebe und garantiert die regelmässige und gleichmässige Verteilung der Chromosomen des Aussennucleus und des Caryosoms auf die sekundären Kerne. Als komplizierterer Teilungsprozess ist er auch eben deswegen ein langsamerer.

Im Gegensatz hierzu kennzeichnet sich die zweite Teilungsweise der Amoebe durch die geringere Regelmässigkeit der Verteilung der Chromosomen auf die sekundären Kerne; als weniger kompliziert, auch ist sie rascher und mehr geeignet, eine schnelle Vermehrung der Amoebe zu garantiren; die Teilung oder richtiger die Fragmentierung des Protoplasmas

priado a assegurar a rapida multiplicação da ameba; a segmentação do protoplasma, ou melhor, a fragmentação delle indica o seu relacionamento com o processo de divizão chizogonica da ameba.

Os dous aspetos diversos da divizão nuclear da *Amœba diplomitotica* foram os que observámos no decurso de nossas pesquizas e aos quais demos a interpretação que, de acordo com os fatos, nos pareceu mais lojica. Existe certa semelhança entre o processo de divizão da ameba que estudamos e a da *Amœba limax* pesquizada por Wahlkampf; é evidente, porem, que no nosso cazo a complexidade do fenomeno é bem maior.

E' bastante interessante sob o ponto de vista filojenetico assinalar a semelhança entre os processos de divizão da *Amœba diplomitotica* e da *Polytomella agilis,* ambos protozoarios tipicos de grupos diversos, embora relacionados, como as amebas e os flajelados.

A parte mais interessante da biolojia da *Amœba diplomitotica,* é incontestavelmente a divizão della.

O enquistamento nada tem de notavel; processa se como nas amebas do typo *limax.*

Os quistos, quando formados são circulares, e medem 7,5 μ. de diametro, são quazi eguais uns aos outros. Têm a côr amarelada e são limitados por duplo envoltorio constituido internamente por uma membrana de duplo contorno nitido e, externamente, por membrana de contorno externo um pouco irregular. Em cada quisto apenas se vê um nucleo; não conseguimos nelles observar qualquer indicio de multiplicação nuclear ou de autogamia. Egualmente nunca nos foi possivel encontrar, em qualquer periodo da evolução da ameba, fazes de copulação, como recentemente assinalaram na *Amœba diploidea* Hartmann e Nœgler.

deutet seine Verwandtschaft mit dem schizogonischen Teilungsprozess der Amoeben an.

Diese beiden verschiedenen Bilder der Kernteilung der *Amoeba diplomitotica* sind es, die wir im Laufe unserer Untersuchungen beobachteten und die wir so deuteten, wie es uns in Uebereinstimmung mit den Tatsachen, am logischsten erschien. Es besteht eine gewisse Aehnlichkeit zwischen dem Teilungsprozesse der Amoebe, welche wir studierten und demjenigen der *Amoeba limax*, welcher von VAHLKAMPF untersucht worden ist; jedoch ist es klar, dass in unserem Falle die Erscheinung eine weit kompliziertere ist. Vom phylogenetischen Gesichtspunkte aus ist es nicht uninteressant, die Aehnlichkeit zwischen den Teilungsprozessen der *Amoeba diplomitotica* und der *Polytomella agilis* hervorzuheben, zweier Protozoen, welche für zwei verschiedene, wiewohl verwandte Gruppen, wie die Amoeben und Flagellaten, typisch sind.

Der interessanteste Teil der Biologie der *Amoeba diplomiiotica* ist unzweifelhaft ihre Teilung.

Die Incystirung bietet nichts bemerkenswertes und vollzieht sich wie bei den Amoeben vom *Limax*-typus. Die vollendeten Cysten sind rund und messen 7,5 Mikra im Durchmesser; sie sind einander fast gleich, von gelblicher Farbe und von einer doppelten Hülle umgeben, inwendig von einer Membran mit deutlich doppeltem Umrisse und auswendig von einer solchen mit etwas unregelmässiger äusseren Kontur. In jeder Cyste sieht man nur einen Kern; niemals haben wir in denselben irgend ein Anzeichen einer Kernvermehrung oder Autogamie bemerken können. Ebenso war es uns niemals möglich, in irgend einer Entwicklungsperiode unserer Amoebe Copulationsphasen anzutreffen, wie sie HARTMANN und NAEGLER bei der *Amoeba diploidea* neuerdings angegeben haben.

1
2
3
4
5
6
7
8
10
12
12
9
11
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22